

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-345729

(43)公開日 平成5年(1993)12月27日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 37/30	ADD	8314-4C		
47/02	J	7433-4C		
47/26	J	7433-4C		

審査請求 未請求 請求項の数4(全 6 頁)

(21)出願番号	特願平4-154594	(71)出願人	000000033 旭化成工業株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号
(22)出願日	平成4年(1992)6月15日	(72)発明者	遠藤 健 静岡県田方郡大仁町三福632番地の1 旭 化成工業株式会社内
		(72)発明者	杉山 好徳 愛知県西加茂郡三好町大字福田字池田61番 地 旭化成工業株式会社内

(54)【発明の名称】 カルシトニン類の安定化組成物および安定化法

(57)【要約】

【構成】 カルシトニン類を有効成分とし、糖類および塩化ナトリウムを含有し、糖類1重量部に対して塩化ナトリウムの量が1/100~1/4重量部を有する凍結乾燥物である安定化組成物および安定化法。

【効果】 カルシトニン類の凍結乾燥組成物において、糖類単独では40℃、3ヶ月後の安定性が低下し、また塩化ナトリウム単独または塩化ナトリウムの添加量が多い試料では凍結乾燥においてケーキが収縮し好ましくなく、かつ安定性も低下するが、一方塩化ナトリウム及び糖類を併用した本発明の凍結乾燥物の安定化組成物はいずれも40℃、3ヶ月後の安定性が85%以上の残存活性を示す良好なものであった。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 カルシトニン類を有効成分とし、糖類および塩化ナトリウムを含有し、糖類1重量部に対して塩化ナトリウム1/100～1/4重量部を有する凍結乾燥物であることを特徴とする安定化組成物。

【請求項2】 糖類が、マンニトール、グルコース、ソルビトール、イノシトール、キシリトール、ガラクトース、フルクトース、シュクロース、マルトース、ラクトース、トレハロース、デキストラン、サイクロデキストリンからなる群より選ばれる1種または2種以上の糖類である請求項1記載の組成物。

【請求項3】 カルシトニン類を有効成分とし、糖類および塩化ナトリウムを糖類1重量部に対して塩化ナトリウム1/100～1/4重量部を、水性媒体に溶解した後凍結乾燥することを特徴とするカルシトニン類の安定化法。

【請求項4】 糖類が、マンニトール、グルコース、ソルビトール、イノシトール、キシリトール、ガラクトース、フルクトース、シュクロース、マルトース、ラクトース、トレハロース、デキストラン、サイクロデキストリンからなる群より選ばれる1種または2種以上の糖類である請求項3記載の安定化法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、カルシトニン類(Calcitonins)を有効成分とする凍結乾燥物である安定化組成物およびカルシトニン類の安定化法に関する。

【0002】

【従来の技術】 カルシトニン類は、血中カルシウム濃度に関与するポリペプチドホルモンであり、高カルシウム血症、骨ページェット病あるいは骨粗鬆症における疼痛改善に用いられる医薬であり、天然型カルシトニンとその類似体が知られている。これらのカルシトニン類を、用時溶解型凍結乾燥剤として製剤化するに当たり、マンニトール等の糖類を賦形剤として配合する方法が一般的に用いられている(特開平2-111号公報)。

【0003】 さらにカルシトニン類を注射液として製剤化する場合、等張化剤として塩化ナトリウム、緩衝剤として酢酸緩衝液、クエン酸緩衝液および乳酸緩衝液、主薬として5～200単位のカリシトニン類を含有せしめる注射剤が知られ、さらに凍結乾燥剤としてこれらの液剤に乳糖、マンニトール、デキストラン、グリシンなどの賦形剤を2～3%溶解し、凍結乾燥してなる製剤が知られている(特公平3-75532号公報)。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 ペプチド、蛋白質等の用時溶解型凍結乾燥剤の賦形剤としては、マンニトールがもっとも汎用されているが、マンニトールをカルシトニン類の用時溶解型凍結乾燥剤の賦形剤として使用し

ても、その安定化効果については満足した結果は得られない。また、例えば等張化の目的として一般的には0.7～0.9%程度の塩化ナトリウムの濃度のカルシトニン類の注射剤を凍結乾燥したものは、塩化ナトリウムの量が多すぎるためケーキの収縮などが起こり、目的とする凍乾製剤は得にくいもので、さらに賦形剤として2～3%の糖類やアミノ酸を添加しても同様の欠点を解決するには至らず、カルシトニン類を有効成分とする用時溶解型の安定性良好な凍結乾燥組成物およびカルシトニン類の安定化法が望まれていた。

【0005】

【課題を解決するための手段】 このような課題を解決すべく、カルシトニン類を有効成分とする安全で安定な製剤処方を得るため、種々研究を続けた結果、意外にも各種糖類に、該糖類1重量部に対して1/100～1/4重量部の塩化ナトリウムを配合して凍結乾燥することにより、糖類単独の場合より凍結乾燥剤の安定性が著しく向上することを見出した。この結果、カルシトニン類の凍結乾燥剤の安定化剤として糖類と塩化ナトリウムを併用することにより、安全でしかも熱および保存安定性に優れ、かつ外観的にも問題のないカルシトニン類の凍結乾燥剤、または凍結乾燥組成物を調製することが可能となった。

【0006】 すなわち、本発明は、カルシトニン類を有効成分とし、糖類および塩化ナトリウムを含有し、糖類1重量部に対して塩化ナトリウム1/100～1/4重量部を有する凍結乾燥物であることを特徴とする凍結乾燥組成物、およびカルシトニン類を有効成分とし、糖類および塩化ナトリウムを糖類1重量部に対して塩化ナトリウム1/100～1/4重量部を、水性媒体に溶解した後凍結乾燥することを特徴とするカルシトニン類の安定化法である。

【0007】 まず、本発明の有効成分であるカルシトニン類とは、少なくとも血清カルシウム低下作用を有するポリペプチド類であって、天然型カルシトニンまたはその類似体が知られている。天然型カルシトニンの例としては、ウナギカルシトニン、サケカルシトニン、ブタカルシトニン、ヒトカルシトニン、ニワトリカルシトニン等が挙げられ、内分泌細胞から分泌されてカルシウム調節ホルモンとしての機能を果たしている。また類似体としては、天然型カルシトニンのS-S結合をアミノスベリン酸によってCH₂-CH₂結合に置換した類似体、例えばエルカトニン([Asu¹⁻⁷])ウナギカルシトニン)、([Asu¹⁻⁷])ニワトリカルシトニン、([Asu¹⁻⁷])サケカルシトニンや([Asu¹⁻⁷])ヒトカルシトニンなどが知られている。

【0008】 またカルシトニン類は一般的に極めて微量にて効果を奏するもので、例えばエルカトニンにおいては1回投与量としては6000単位/mgの活性を有するエルカトニンを10単位～40単位程度を静脈投与す

ればよいものであって、これらのカルシトニン類においては一般に適宜1単位～5000単位の量を使用する量として用いればよい。

【0009】本発明で用いる糖類とは、単糖類、二糖類以上の水溶性多糖類が挙げられ、例えばマンニトール、グルコース、ソルビトール、イノシトール、キシリトール、ガラクトース、フルクトース、シュクロース、マルトース、ラクトース、トレハロース、デキストラン、サイクロデキストリン等水溶性糖類が挙げられる。これらの糖類は、1種または2種以上を併用して用いても良

く、またこれらの糖類に限定されるものではない。
【0010】糖類の添加量は、カルシトニン類1重量に対し、2重量以上が好ましく、更に好ましくは20～20000重量添加すればよい。しかしながら本発明の目的がカルシトニン類の安定化組成物であり、この組成物は必ずしも静脈投与用製剤として使用されるものに限定されるものではないことから、例えばバイアルまたはアンプル等の容器に溶液として調整したものを分注した後凍結乾燥され、このとき使用される主薬たるカルシトニンの量は、通常1単位～5000単位であればよいものである。一方、本発明に使用される糖類は、凍結時の安定化剤として用いられていることはもちろんであるが、適宜増量剤として一定量添加されてもよい。

【0011】かかる理由により、糖類の添加量は、主薬たるカルシトニンとの相対比ではなく、アンプルあるいはバイアル1本当たりの量で規定する方が、より現実的であろう。この場合の添加量は、0.5～100mg程度であり更に好ましくは1～20mgである。いずれにせよ添加される糖類の量が何ら限定されるものではないことが明白である。

【0012】本発明において塩化ナトリウムの添加量は、糖類との相対比において規定されるものである。塩化ナトリウムの添加量は、糖類に対し多いほどカルシトニン類が安定であるが、糖類に対する重量比が25%以上になると、凍結乾燥後のケーキに収縮が見られ、安定

性も低下する傾向にあるので、通常は糖類1重量部に対し、1/100重量部～1/4重量部、好ましくは1/20重量部～1/5重量部使用すればよい。水性媒体としては、例えば注射用蒸留水や緩衝液が例示される。さらに上記の水性溶媒は毒性を示さない限り水溶性有機溶媒、例えば少量のエタノール等を含んでいてもよい。

【0013】本発明の用時溶解用の凍結乾燥の安定化組成物を製造するには、例えば上記の組成のカルシトニン類、糖類および塩化ナトリウムに、必要に応じて適宜公知のpH調製剤、安定化剤、増量剤、防腐剤等を混合し、上記の水性媒体に溶解して無菌濾過し、常法に基づいて凍結乾燥すればよい。この凍結乾燥には、通常用いられている条件下で、トレー凍結乾燥、スプレー凍結乾燥、バイアル凍結乾燥などの公知の凍結乾燥法が採用できる。

【0014】

【実施例】以下に本発明を実施例及び対照例を挙げて詳細に説明するが、何らこれらによって限定されるものではない。

【0015】

【実施例1】エルカトニン（旭化成工業社製）1.5mg（6000単位/mg）とシュクロース500mgおよび塩化ナトリウム50mgをとり、無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い窒素置換後、打栓、巻き締めし、用時溶解型乾燥製剤を得た（本発明品1）。

【0016】

【実施例2～6】実施例1において、シュクロースの代わりに表1に示される糖類を使用し、また塩化ナトリウムを表1の量を用いて同様に処理し、各凍結乾燥製剤（本発明品2～6）を得た。

【0017】

【表1】

5	本 発 明 品	糖 類	6	塩化ナトリウム
2		マンニトール 500mg		10mg
3		〃 〃		50mg
4		〃 〃		100mg
5		ラクトース 〃		50mg
6		デキストラン 〃		50mg

【0018】

【実施例7】サケカルシトニン（シグマ社製）0.2mgとシュクロース100mgおよび塩化ナトリウム10mgをとり、無菌蒸留水10mlを加え溶解させた。次にガラスバイアルに0.2mlずつ分注し、凍結乾燥を行い窒素置換後、打栓、巻き締めし、用時溶解型乾燥剤を得た。得られた製剤は、40℃で3ヶ月後のカルシトニン残存率が良好なものであった。

【0019】

【実施例8】ウナギカルシトニン（シグマ社製）0.15mgとマルトース180mgおよび塩化ナトリウム9mgをとり、無菌蒸留水9mlを加え溶解させた。次にガラスアンプルに0.1mlずつ分注し、凍結乾燥後、打栓、巻き締めし、用時溶解型乾燥剤を得た。得られた製剤は、40℃で3ヶ月後のカルシトニン残存率が良好なものであった。

【0020】

【実施例9】ヒトカルシトニン（シグマ社製）0.3mgとトレハロース100mgおよび塩化ナトリウム10mgをとり、無菌蒸留水10mlを加え溶解させた。次にガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥後、打栓、巻き締めし、用時溶解型乾燥剤を得た。得られた製剤は、40℃で3ヶ月後のカルシトニン残存率が良好なものであった。

【0021】

【発明の効果】カルシトニン類の安定性試験

【0022】対照製剤の調製

【0023】（1）エルカトニン（旭化成工業社製）

1.5mgと塩化ナトリウム50mgをとり、無菌蒸留

水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い窒素置換後、打栓、巻き締めし、用時溶解型乾燥剤を得た（対照品1）。

【0024】（2）エルカトニン（旭化成工業社製）1.5mgとシュクロース500mgをとり、無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い窒素置換後、打栓、巻き締めし、用時溶解型乾燥剤を得た（対照品2）。

【0025】（3）エルカトニン（旭化成工業社製）1.5mgとマンニトール500mgをとり、無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い窒素置換後、打栓、巻き締めし、用時溶解型乾燥剤を得た（対照品3）。

【0026】（4）エルカトニン（旭化成工業社製）1.5mgとラクトース500mgをとり、無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い窒素置換後、打栓、巻き締めし、用時溶解型乾燥剤を得た（対照品4）。

【0027】（5）エルカトニン（旭化成工業社製）1.5mgとデキストラン500mgをとり、無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い窒素置換後、打栓、巻き締めし、用時溶解型乾燥剤を得た（対照品5）。

【0028】（6）エルカトニン（旭化成工業社製）

1. 5mgとラクトース1250mg及び塩化ナトリウム450mgをとり、無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い窒素置換後、打栓、巻き締めし、用時溶解型乾燥製剤を得た（対照品6）。

【0029】試験方法

【0030】前述の実施例1～6で得た本発明品1～6および対照品1～6の各々を40℃に保存し、経時的にサンプリングを行い、次の条件における高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いてエルカトニン含量を

測定した。

HPLC測定条件

カラム：YMC AM-302 ODS S-5 120（YMC社製）

内径4.6×150mm

移動相：0.1%TFA：アセトニトリル（65：35）

流速：1.0ml/分

検出：UV 220nm

【0031】結果

各試料の組成と、40℃3ヶ月間保存のエルカトニン残存率を、表2に示した。

【0032】

【表2】

試料	糖類	添加量	塩化 ナトリウム	エルカトニン残存率(%)				開始時 外観
				開始時	40℃ 1ヶ月	40℃ 2ヶ月	40℃ 3ヶ月	
対照品1	無添加		0.5mg	100	88	81	77	収縮
対照品2	シュクロース	5mg	無添加	100	89	82	80	良
本発明品1	シュクロース	〃	0.5mg	100	98	96	96	良
対照品3	マンニトール	〃	無添加	100	85	82	79	良
本発明品2	マンニトール	〃	0.1mg	100	91	90	88	良
本発明品3	〃	〃	0.5mg	100	96	95	92	良
本発明品4	〃	〃	1mg	100	96	96	95	良
対照品4	ラクトース	〃	無添加	100	91	86	83	良
本発明品5	〃	〃	0.5mg	100	99	97	97	良
対照品5	デキストラン	〃	無添加	100	92	89	83	良
本発明品6	〃	〃	0.5mg	100	98	97	95	良
対照品6	ラクトース	12.5mg	4.5mg	100	87	86	80	収縮

(添加量は、1バイアル当りに換算した数値)

【0033】表2に示した通り、糖類単独では、40℃、3ヶ月後の安定性が低下し、また塩化ナトリウム単独または塩化ナトリウムの添加量が多い試料では、凍結乾燥においてケーキが収縮し好ましくなく、かつ、安定性も低下した。一方塩化ナトリウム及び糖類を併用した本発明品はいずれも40℃、3ヶ月後のカルシトニン

類の残存活性が85%以上の安定なものであって、併用効果が認められた。上記の通り、糖類及び一定量の塩化ナトリウムをカルシトニン類の安定化剤として用いることにより、安定で安全性の高いカルシトニン類凍結乾燥製剤を得ることが可能となった。